

总 RNA 提取试剂盒-小量

说明书

组分	编号	ZD-TG-75-50
mini 离心柱		50 个/包×1
1.5ml 离心管		50 个/包×1
玻璃珠		15g/瓶×1
溶液 TR		60ml/瓶×1
溶液 W1A		9ml/瓶×1
溶液 RW2		12ml/瓶×1
RNase-free 水		12ml/瓶×1
说明书		1 份

产品介绍

产品用于从细胞、组织、血液及粪便中提取 RNA。操作快速简单，获得的总 RNA 纯度高，不含 DNA 和蛋白质污染。

存储和稳定性

- 溶液 TR 置于 2~8℃ 避光保存。其余组分室温避光储存。
- 保质期：12 个月。

使用前说明

- 阅读说明书，备好试剂和仪器。
- 自备仪器、耗材及试剂：离心机、合适规格无 RNase 离心管、三氯甲烷、无水乙醇、匀浆器（提取组织 RNA 选用）、红细胞裂解液（选购，

提取白细胞 RNA 使用，货号：H028）。盒中的 1.5ml 离心管专用于收集最后一步中的 RNA 洗脱液。

- 使用并经常更换一次性手套。使用无 RNase 枪头避免污染。
- 首次使用前，分别向溶液 W1A 和 RW2 瓶中按标签要求加入无水乙醇，摇匀后标记备用。
- 注意！溶液 TR 含苯酚，与皮肤接触及吞咽有毒，可导致烧伤。与皮肤接触后，应立即用洗涤剂和大量水冲洗。如感到不适，及时就医。

操作步骤

1. 样品处理

注：由于不同部位及生产时期的样本 RNA 含量可相差数倍，实验前查阅资料确定样本使用量。特殊样品（坚硬组织、富含胶原组织和富含 RNase 组织）需预处理：先将组织在液氮中用研钵快速研磨成粉末。取适量粉末移入匀浆器后立即加入溶液 TR 匀浆。勿在加入溶液 TR 前使组织融化。样本为细胞时，加入溶液 TR 前勿洗涤细胞以免降解 mRNA。如为低温保存样本，取出后立即处理，勿使材料融化。溶液 TR 用量大于 700 μ l 时步骤“7”中需多次过柱。

1.1 植物组织：将组织剪碎（幼嫩组织使用）或液氮研磨成粉。取 70mg 组织移入匀浆器中，加入 700 μ l 溶液 TR，充分匀浆。将匀浆全部移入离心管中。至步骤“2”。

注：70mg 为参考值，可按需要调整组织用量及溶液 TR 用量，其比例为每 10mg 组织加入 100 μ l 溶液 TR。

1.2 动物组织及粪便：取 20~40mg 组织移入匀浆器中，加 700 μ l 溶液 TR，充分匀浆。将匀浆全部移入离心管中，至步骤“2”。

注：可按需要调整组织用量及溶液 TR 用量，比例为每 5mg 组织加入 100 μ l 溶液 TR。

1.3 贴壁细胞：弃去全部培养液。每 1cm²面积加入 100 μ l 溶液TR，用枪头吸打充分混匀。将液体全部移入离心管中，至步骤“2”。

1.4 细胞悬液：离心取细胞。向 7 \times 10⁶个动物、酵母或细菌细胞中加入 700 μ l 溶液TR。漩涡混匀或用枪头吸打至液体不再粘稠(提高得率，重要)。将液体全部移入离心管中，至步骤“2”。

注：酵母和细菌细胞需要使用玻璃珠研磨处理。方法为每 1ml 液体中加入 300mg 玻璃珠，涡旋剧烈混摇 5~10min。

1.5 血液、血清、血浆及奶液：取 200 μ l 样品于离心管中，加入 600 μ l 溶液TR，剧烈振摇混匀 30sec。至步骤“2”。

1.6 白细胞：取 1~4ml 血样于合适规格的离心管（离心管容积至少为血样体积的 15 倍）中，加入 10 倍体积的红细胞裂解液后充分混匀，室温放置 5min。1000 \times g 离心 5min。小心弃去全部上清液。向白细胞沉淀中加入约沉淀 10 倍体积的溶液TR（血液用量为 2ml 时推荐溶液TR用量：500 μ l），用枪头吸打混匀。至步骤“2”。

2. 室温放置5min，使样品充分裂解。
3. （可选）样品为血液、血清、血浆、奶液或含较多蛋白/脂肪/多糖/植物筋节时使用：12000 \times g 离心10min。取上清于新的离心管中。

注：处理富含脂肪组织时，离心后需将液体上漂浮的脂肪层移弃。

4. 加入溶液TR用量1/5体积的三氯甲烷（即每使用1ml溶液TR需加入200 μ l 三氯甲烷）。剧烈振摇混匀15sec，室温放置5min。
5. 4 $^{\circ}$ C 12000 \times g 离心15min。将上层水相（白色中间层上的澄清部分，注意不要吸入中间层）移入合适规格的离心管（离心管容积至少为水相体积

的3倍）中并计算水相体积。

注：离心时温度大于8 $^{\circ}$ C 时会有部分DNA混入水相。

6. 向管中加入水相等体积的无水乙醇，充分混匀。
注：如需提取的总RNA中包含小片段RNA如miRNA，需加入水相1.5倍体积的无水乙醇。如仅需小片段RNA如miRNA，订购miRNA提取盒。
7. 将混匀液(如有沉淀一并移入)移入套有收集管的mini离心柱中，12000 \times g 离心1min。弃去收集管中废液，将离心柱放回。
注：如未能将混匀液一次全部移入，重复上述操作使液体全部过柱。
8. 向柱中加入550 μ l 溶液W1A，12000 \times g 离心30sec。弃废液，将离心柱放回。
9. 重复步骤“8”一次。
10. 向柱中加入550 μ l 溶液RW2，12000 \times g 离心30sec。弃废液，将离心柱放回。
11. 重复步骤“10”一次。
12. 最高转速（12000 \times g 以上）离心2min。
13. 将离心柱从收集管中取出，放入新的1.5ml 离心管中。向柱中央加入 RNase-free 水 50~100 μ l，室温放置 2~3min。12000 \times g 离心 1min。总 RNA 收集到 1.5ml 离心管中。
注：为提高得率，可向柱中央再加入 50~100 μ l RNase-free 水，室温放置后离心收集 RNA 溶液。注意这会增大溶液体积并降低 RNA 浓度。也可将离心收集的溶液重新加回柱膜中央后室温放置 2min，12000 \times g 离心 1min 收集液体，这可提升核酸浓度但在提高得率方面稍逊于前法。

宁波市重鼎生物技术有限公司

主页：www.genepure.com 电话：4008780133